



Jew

PTO/SB/21 (02-04)

Approved for use through 07/31/2006. OMB 0651-0031
U.S. Patent and Trademark Office; U.S. DEPARTMENT OF COMMERCE

Under the Paperwork Reduction Act of 1995, no persons are required to respond to a collection of information unless it displays a valid OMB control number.

TRANSMITTAL FORM

(to be used for all correspondence after initial filing)

Application Number	10/825,288
Filing Date	April 16, 2004
First Named Inventor	Marcinkiewicz Janusz et al.
Art Unit	
Examiner Name	
Attorney Docket Number	JMA01

Total Number of Pages in This Submission

ENCLOSURES (Check all that apply)

<input type="checkbox"/> Fee Transmittal Form	<input type="checkbox"/> Drawing(s)	<input type="checkbox"/> After Allowance communication to Technology Center (TC)
<input type="checkbox"/> Fee Attached	<input type="checkbox"/> Licensing-related Papers	<input type="checkbox"/> Appeal Communication to Board of Appeals and Interferences
<input type="checkbox"/> Amendment/Reply	<input type="checkbox"/> Petition	<input type="checkbox"/> Appeal Communication to TC (Appeal Notice, Brief, Reply Brief)
<input type="checkbox"/> After Final	<input type="checkbox"/> Petition to Convert to a Provisional Application	<input type="checkbox"/> Proprietary Information
<input type="checkbox"/> Affidavits/declaration(s)	<input type="checkbox"/> Power of Attorney, Revocation	<input type="checkbox"/> Status Letter
<input type="checkbox"/> Extension of Time Request	<input type="checkbox"/> Change of Correspondence Address	<input checked="" type="checkbox"/> Other Enclosure(s) (please identify below):
<input type="checkbox"/> Express Abandonment Request	<input type="checkbox"/> Terminal Disclaimer	Translation of Priority Documents (2)
<input type="checkbox"/> Information Disclosure Statement	<input type="checkbox"/> Request for Refund	Postcard
<input checked="" type="checkbox"/> Certified Copy of Priority Document(s)	<input type="checkbox"/> CD, Number of CD(s) _____	
<input type="checkbox"/> Response to Missing Parts/Incomplete Application	Remarks	
<input type="checkbox"/> Response to Missing Parts under 37 CFR 1.52 or 1.53		

SIGNATURE OF APPLICANT, ATTORNEY, OR AGENT

Firm or Individual name	Marcinkiewicz Janusz
Signature	<i>[Signature]</i>
Date	June 1, 2004

CERTIFICATE OF TRANSMISSION/MAILING

I hereby certify that this correspondence is being facsimile transmitted to the USPTO or deposited with the United States Postal Service with sufficient postage as first class mail in an envelope addressed to: Commissioner for Patents, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 on the date shown below.

Typed or printed name	Marcinkiewicz Janusz		
Signature	<i>[Signature]</i>	Date	June 1, 2004

This collection of information is required by 37 CFR 1.5. The information is required to obtain or retain a benefit by the public which is to file (and by the USPTO to process) an application. Confidentiality is governed by 35 U.S.C. 122 and 37 CFR 1.14. This collection is estimated to 2 hours to complete, including gathering, preparing, and submitting the completed application form to the USPTO. Time will vary depending upon the individual case. Any comments on the amount of time you require to complete this form and/or suggestions for reducing this burden, should be sent to the Chief Information Officer, U.S. Patent and Trademark Office, U.S. Department of Commerce, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450. DO NOT SEND FEES OR COMPLETED FORMS TO THIS ADDRESS. SEND TO: Commissioner for Patents, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450.

If you need assistance in completing the form, call 1-800-PTO-9199 and select option 2.



Z A Ś W I A D C Z E N I E

Janusz MARCINKIEWICZ
Kraków, Polska

Andrzej KASPROWICZ
Kraków, Polska

Ewa REMIN
Kraków, Polska

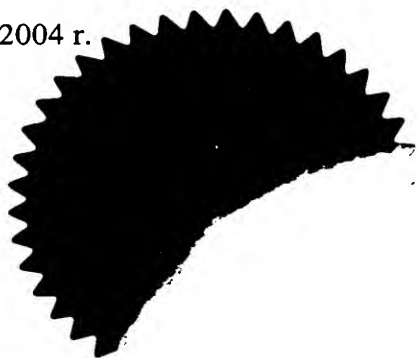
Andrzej REMIN
Kraków, Polska

złożyli w Urzędzie Patentowym Rzeczypospolitej Polskiej dnia 22 kwietnia 2003 r. podanie o udzielenie patentu na wynalazek pt.: „**Sposób hamowania rozwoju bakterii i grzybów chorobotwórczych i kompozycja bakteriobójcza.**”

Dołączone do niniejszego zaświadczenia opis wynalazku, zastrzeżenia patentowe są wierną kopią dokumentów złożonych przy podaniu w dniu 22 kwietnia 2003 r.

Podanie złożono za numerem P-359792.

Warszawa, dnia 18 marca 2004 r.



z upoważnienia Prezesa


inż. Barbara Zabczyk

Naczelnik

Sposób hamowania rozwoju bakterii i grzybów chorobotwórczych i kompozycja bakteriobójcza

Przedmiotem wynalazku jest sposób hamowania rozwoju bakterii i grzybów chorobotwórczych i kompozycja bakteriobójcza przeznaczona do leczenia schorzeń o etiologii bakteryjnej i grzybiczej wywołujących ostre i przewlekłe stany zapalne skóry i błon śluzowych.

Skóra ludzka i zewnętrzne błony śluzowe podlegają stałemu kontaktowi ze światem zewnętrznym przez co narażone są na choroby wywoływane przez bakterie, grzyby i wirusy. Bakteryjne choroby skóry wywoływane są najczęściej przez mieszane zakażenia gronkowcowo-paciorkowcowe. Grzybice skóry wywoływane są przez grzyby chorobotwórcze. Jedną z najczęstszych chorób skóry jest trądzik którego czynnikiem etiologicznym są bakterie *Propionibacterium acnes*.

W opisie patentowym US 4772592 opisuje się trwałą emulsję, woda w oleju, przystosowaną do użytku zewnętrznego do leczenia trądzika, która zawiera mleczan alkilu o 1÷4 atomach węgla, olej silikonowy, ciekły emulgator niejonowy i alkanol o 1÷4 atomach węgla, przy czym związki te znajdują się w określonych ilościach. Lotne ciecze polarne, takie jak mleczan alkilu i alkanol stanowią podstawowe składniki tej emulsji, ponieważ w asocjacji z olejem silikonowym umożliwiają stabilizowanie tej emulsji. Jednak alkanole o 1÷4 atomach węgla wykazują tę niedogodność, że drażnią skórę lub śluzówkę.

Wiadomym jest, że właściwości bakteriobójcze posiada chloramina tauryny. Właściwości te zostały opisane w publikacji Hyg. Med. 18,330-326,1992.

Nieoczekiwanie stwierdzono, że bromamina tauryny ma dużo silniejsze działanie bakteriobójcze niż chloramina tauryny.

Sposób według wynalazku polega na oddziaływaniu na bakterie i grzyby chorobotwórcze skuteczną ilością bromaminy tauryny.

Kompozycja bakteriobójcza według wynalazku charakteryzuje się tym, że jej podstawowym składnikiem jest bromamina tauryny stanowiąca od 10% do 100% wagowych kompozycji.

Przykład wykonania I

Przygotowanie badanego roztworu.

Do badań wybrano dwa szczepy bakteryjne występujące w skórze człowieka *Propionibacterium acnes* (wywołujących trądzik) i *Staphylococcus epidermidis* (element flory fizjologicznej skóry). W celu zabezpieczenia wybranych drobnoustrojów szczepy zliofilizowano i przechowywano w temperaturze pokojowej. W celu przygotowania hodowli

szczepów do badań immunologicznych liofilizat otwierano, dodawano 0.5ml. 0.9% roztworu NaCl, mieszano i posiewano na podłoże wzrostowe. Inkubacja odbywała się w warunkach beztlenowych w 35°C przez 48 ÷ 72 godz. Po inkubacji przygotowano zawiesinę szczepów o gęstości 5×10^9 CFU/ml.

Przygotowanie roztworu bromaminy tauryny TauBr.

Aby otrzymać roztwór bromaminy tauryny mieszano 0.33ml. 180mM NaOCl w 0.67ml buforu fosforanowego z 1ml. 100mM NaBr. Uzyskany w ten sposób NaOBr zawieszano w 3ml. buforu fosforanowego i bardzo wolno mieszając wkraplano do 5ml. 100mM tauryny. W końcowym efekcie otrzymano 10ml. 4÷6 mM bromaminy tauryny TauBr.

Badanie aktywności bakteriobójczej roztworu bromaminy tauryny TauBr.

W celu określenia aktywności bakteriobójczej bakterie *Propionibacterium acnes* i *Staphylococcus epidermidis* inkubowano w zamkniętych probówkach z roztworem bromaminy tauryny. Zakres badanych stężeń wynosił od 1 do 1000 μ M. Inkubację prowadzono w temperaturze pokojowej przez 30 min. Po zakończonej inkubacji bakterie posiewano na podłoże stałe. Po odpowiednim okresie inkubacji liczono ilość wyrosłych kolonii.

Ocena wrażliwości bakterii *Propionibacterium acnes* i *Staphylococcus epidermidis*

Analizując wrażliwość badanych szczepów stwierdzono działanie bakteriobójcze bromaminy tauryny na *Propionibacterium acnes* dla którego stężenie hamujące MIC = 32 μ M i *Staphylococcus epidermidis* dla którego stężenie hamujące MIC=512 μ M.

Przykład wykonania II

Kompozycja bakteriobójcza opisana w przykładzie wykonania ma postać emulsji i aplikowana jest na skórę pacjenta.

Kompozycja bakteriobójcza składa się z:

substancji czynnej, bromaminy tauryny w ilości od 10 ÷ 50% ,
podłoża (emulsji)- uzupełnienie do 100% .

Podłoże (emulsja) zawiera fazę lipofilną w ilości 16 % - płynna parafina, alkohol cetylowy i fazę hydrofilną w ilości 84% - glikol propylenowy, laurylosiarczan.

Kompozycja bakteriobójcza znajduje zastosowanie szczególnie w leczeniu stanów zapalnych skóry wywołanych infekcją bakteryjną lub grzybiczą, np. trądzik (acne), candidioza skóry.

Z przeprowadzonych badań dodatkowych wynika, że bakteriobójcze działanie bromaminy tauryny TauBr jest znacznie silniejsze od chloraminy tauryny TauCl, szczególnie przy pH7, gdzie chloramina tauryny nie wykazuje własności bakteriobójczych w stężeniach niecytotoksycznych dla komórek ssaków, zaś bromamina tauryny niszczy 99% badanych bakterii. Wykazano zróżnicowaną wrażliwość badanych szczepów na bromaminę tauryny. Chloramina tauryny nie wykazuje takich właściwości selektywnych działania bakteriobójczego.

Rzecznik Patentowy

Magdalena
inż. Alina Magońska

Zastrzeżenia patentowe

1.
Sposób hamowania rozwoju bakterii i grzybów chorobotwórczych znamienny tym, że oddziałowuje się na bakterie i grzyby chorobotwórcze przez podanie skutecznej ilości bromaminy tauryny.
2.
Kompozycja bakteriobójcza znamienna tym, że jej podstawowym składnikiem jest bromamina tauryny stanowiąca od 10% do 100% wagowych kompozycji.

Rzecznik Patentowy

Magosińska
inż. Alina Magosińska

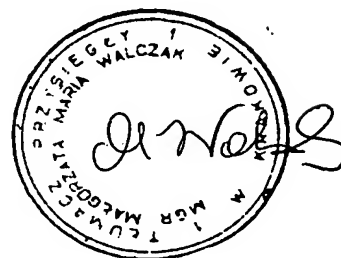


I, the undersigned, sworn translator of the English language for the District Court of the City of Cracow, Poland, hereby certify that the translation of the certificate of the application entitled **"Method for inhibiting pathogenic bacteria and fungi growth and microbicidal composition"** is true and complete translation of the original Polish document presented to me.

Reg. No 14/2004

Cracow, May 31, 2004

Mgr Małgorzata Maria Walczak
Tłumacz Przekładowy z Języka Angielskiego
31-056 Kraków, ul. Józefa 44/8
tel./21-34-50



Translation from the Polish language

THE PATENT OFFICE OF THE REPUBLIC OF POLAND

/in the middle of the page the national emblem of the Republic of Poland/

CERTIFICATE

Janusz Marcinkiewicz
Cracow, Poland
Andrzej Kasprowicz
Cracow, Poland
Ewa Remin
Cracow, Poland
Andrzej Remin
Cracow, Poland

on April 22nd, 2003 submitted to the Patent Office of the Republic of Poland an application for granting a patent for an invention called **"Method for inhibiting pathogenic bacteria and fungi growth and microbicidal composition"**.

The description of the invention, patent claims, attached to this certificate, are true copies of the documents, which were submitted together with the application on April 22nd, 2003.

The application was submitted under the following number: P-359792.

Warsaw, as of March 18th, 2003

on behalf of the President

/-/ illegible signature

Eng. Barbara Zabczyk

Head of Department



THE PATENT OFFICE OF THE REPUBLIC OF POLAND

* 1 *

THE PATENT OFFICE OF THE REPUBLIC OF POLAND

* 1 *

/in the right hand corner of the page the following number: /

359792

/the number in handwriting:/

4

Method for inhibiting pathogenic bacteria and fungi growth and microbicidal composition

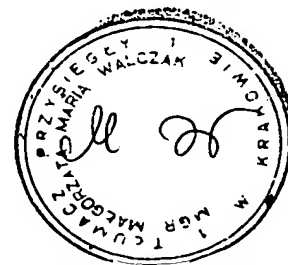
The subject of the invention is a method for inhibiting pathogenic bacteria and fungi growth and microbicidal composition suitable for treatment of pathological states of bacterial and mycotic aetiology, causing acute and chronic inflammatory dermal and mucosal conditions.

The human skin and the external mucosae are constantly in contact with their surrounding environment. Hence they are exposed to diseases due to bacteria, fungi and viruses. Bacterial skin diseases are mostly caused by mixed staphylococcal/streptococcal infections. Dermatomycoses are pathogen fungi. One of the most common skin diseases is acne in which bacteria *Propionibacterium acnes* is an aetiological factor.

In the US Patent No. US 4772592 a water-in-oil emulsion suitable for topical application to human skin for the treatment of acne is described. The water-in-oil emulsion comprises in addition to water a C.sub.1 to C.sub.4 alkyl lactate, a silicone oil ingredient containing a dispersion in a volatile siloxane of a polymer of dimethyl polysiloxane with polyoxyethylene and/or polyoxypropylene side chains. These substances are present in specified quantities. Volatile polar liquids, such as alkyl lactate and alkanol constitute essential components of the emulsion because, in association with silicone oil they act to stabilise it. However, the C.sub.1 to C.sub.4 alkyl lactate irritates the skin and the mucosae.

It is known that taurine chloramine [TauCl] has bactericidal properties. Its effect has been described in Hyg. Med. 18, 330-326, 1992.

Unexpectedly, it has been found that taurine bromamine [TauBr] produces much stronger bactericidal effects than taurine chloramine.



According to the invention the method consists in treating bacteria and fungi mycetes with an efficient quantity of taurine bromamine [TauBr].

The bactericidal formulation, according to the invention, contains taurine bromamine [TauBr] being its essential component at concentrations of 10-100% by weight.

Procedure Example 1

Preparation of the solution to be tested

For research purposes, two bacterial strains commonly found on the human skin were chosen: *Propionibacterium acnes* (causing acne) and *Staphylococcus epidermides* (being a part of physiological flora of the skin). Selected micro-organisms were lyophilised and kept at room temperature. To prepare strain cultures

2

for immunological research the lyophilisate was dissolved in 0.5 ml of 0.9% NaCl solution was added. The mixture was stirred and seeded on a growth medium. Incubation was conducted in anaerobic conditions at 37°C for 48 – 72 hrs. A suspension of bacteria at a concentration of 5×10^9 CFU/ml was then prepared.

Preparation of the TauBr solution

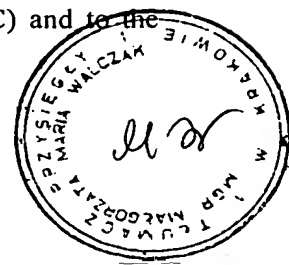
To produce the TauBr solution, 0.33 ml of 180mM NaOCl in 0.67ml of phosphate buffer was mixed with 1ml of 100mM NaBr. The NaOBr so obtained was dissolved in 3ml of phosphate buffer and stirred very gently while 5ml of 100mM taurine was introduced in drops. The final product was 10ml of 4-6 mM TauBr.

Testing the bactericidal activity of the TauBr solution

In order to assess the bactericidal activity the *Propionibacterium acnes* and the *Staphylococcus epidermides* bacteria were incubated in closed tubes with TauBr solution. The range of concentrations tested was 1 – 1000 μ M. The incubation was conducted at room temperature for 30 mins. When this process was completed, bacteria were seeded onto a growth medium. After an appropriate period of time the number of developed colonies was counted.

Estimation of the susceptibility of the *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermides* bacteria to the agent tested [TauBr]

Analysis of the susceptibility of the strains tested proved the bactericidal activity of TauBr to the *Propionibacterium acnes* for which the inhibitory concentration was 32 μ M (MIC) and to the *Staphylococcus epidermides* for which the inhibitory concentration was 512 μ M (MIC)



Procedure Example 2

The bactericidal composition described in the example, in the form of an emulsion, was applied to the patient's skin.

The composition consisted of :

Active substance – taurine bromamine at concentrations of 10 – 50%

Base (emulsion) – made up to 100%.

The base (emulsion) contains a 16% lipophyllic phase – liquid paraffin, cetyl alcohol and an 84% hydrophyllic phase – propylene glycol and estolate. The bactericidal formulation is particularly useful in the treatment of inflammatory skin conditions caused by bacterial or mycotic infections such as acne and skin candidiosis.

Further tests proved that the bactericidal activity of taurine bromamine TauBr is much stronger than taurine chloramine TauCl especially at pH 7, at which TauCl shows no bactericidal properties in sub-cytotoxic concentrations for mammalian cells, whereas TauBr destroys 99% of the bacteria tested. Variable susceptibility of the strains exposed to TauBr was found. TauCl shows no such selective bactericidal properties.

/oblong stamp with the following contents:/

Eng. Alina Magońska
Patent Attorney

/in the right hand corner of the page the following number:/

359792

/the number in handwriting:/

5

Patent claims

1. A method for inhibiting pathogenic bacteria and fungi growth, characterized in that treating bacteria and fungi mycetes with the therapeutically effective amount of taurine bromamine [TauBr].
2. A microbicidal composition containing taurine bromamine, characterized in that an essential component of the composition is the taurine bromamine at concentration of 10-100% by weight.

/oblong stamp with the following contents:/

Eng. Alina Magońska
Patent Attorney

